

Microcitrus 属の精油成分

片山幸良・仁藤伸昌・町野淳子*

(遺伝資源学講座)

平成6年6月23日受理

Essential Oils in Genus *Microcitrus*

Yukiyoshi KATAYAMA, Nobumasa NITO and Junko MACHINO*

(Laboratory of Plant Genetic Resources)

Received June 23, 1994

Summary

Essential oils in mature leaves were investigated by gas chromatography for identifying the five species and one natural hybrid of genus *Microcitrus*. The relationships among the six species of *Microcitrus* were inferred from the similarity matrix index based on the component of essential oils in the leaves.

M. inodora, *M. warburgiana*, *M. australis* and *M. australasiaca* showed distinguishable chromatograms, suggesting that they are independent. The component of essential oils of *M. papuana*, whose phylogenetic position is uncertain, was closely related with *M. australis*. The identification of *M. inodora* was shown by the absence of essential oils in the leaves.

The component of essential oils 'Sydney hybrid' resembles the seed parent.

Key words: *Citrus* relatives, *Microcitrus*, Phylogenetic relationships, Species identification, Volatile oils

緒 言

Microcitrus 属は、真正カンキツ類を構成する *Fortunella* (キンカン属), *Eremocitrus*, *Poncirus* (カラタチ属), *Clymenia* 及び *Citrus* (カンキツ属) の一員であり、ヘスペリド果を着生する。分布地は種によって異なり、オーストラリア北部の乾燥地からニューギニアの熱帯雨林に広がっている¹⁾。元来、野生種で、果実は食用には適さないが、酸性土壌、乾燥土壌、病害及び線虫に対する抵抗性を持つので、台木育成のための素材としての利用が期待されている^{2,3,4,5,6,7,8)}。*Microcitrus* 属はキンカン属、カラタチ属及びカンキツ属と交雑親和性やつぎ木親和性があることが報告されている^{2,3,4,5,9)}。

Microcitrus 属の系統分類には未確定の部分がある。Swingle・Reece¹⁾は6種1変種とし、第1図に示すような系統図を提唱している。1変種は *M. australasica* var. *sanguinea* である。こ

* 現在福岡県久留米農業改良普及所

の分類では *M. papuana* は種としては含まれていない。一方、The new royal horticultural society dictionary of gardening¹⁰⁾には *Microcitrus* 属は5ないし6種からなると記述され、*M. papuana* が含まれている。Barrett⁴⁾は *M. papuana* を独立した種としている。Jones⁷⁾は新たに提唱したカンキツ類の分類において、個々の種は述べていないが、*Microcitrus* 属は7種からなるとしている。彼からの個人的な情報では *M. papuana* を種として認めている。

遺伝資源学研究室には、Swingle・Reece の分類¹⁾による4種と *M. papuana* 及び *M. australis* と *M. australasica* の種間雑種とされている‘Sydney hybrid’をカンキツ類系統保存事業として維持管理している。本研究では、これらの材料を用いて葉に含まれる精油成分の分析を行った。

なお、‘Sydney hybrid’は *M. virgata* と暫定的に命名されたが、一般には受け入れられていないので¹⁾、本論文では‘Sydney hybrid’とした。

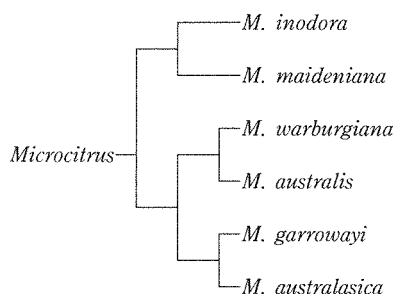


Fig. 1 Phylogeny of the species of genus *Microcitrus* described by Swingle and Reece¹⁾

材料及び方法

材料には本学の温室内で育成している *Microcitrus* 属の植物6種類を用いた。用いた種は1) *M. inodora*, 2) *M. warburgiana*, 3) *M. australis*, 4) *M. australasica*, 5) *M. papuana* 及び6) ‘Sydney hybrid’である。

予備実験において、葉に含まれる精油成分の組成や含量が生育段階により差があるかを検討した。新葉の展開から成熟までの間、葉に含まれる精油成分の量的な変化はみられたが、精油成分の組成の差は少なかった。本実験では11月に採取した1年生の成熟葉を用いて得られた結果をもとに解析を行った。

葉は採取後水洗し、表面の水滴を濾紙で完全に除去し、葉脈を取り除き、約3 mm 角の大きさに細断し、約2 gをガラス容器に移した。4 ml のジクロロメタンを加え冷蔵庫中に1晩静置した。抽出液を Whatman Paper 1PS で濾過し、試料とした。

試料液5 μ l をガスクロマトグラフィーに注入した。ガスクロマトグラフィーは島津 GC-14A を用い、カラムは2 m の長さのステンレス製で、充填剤は Silicone OV-17 (3%) であった。その他の条件は、キャリアーガス: N_2 (40ml/min), 注入口温度: 270°C, 検出器温度: 250°C, カラム温度: 昇温 (60~250°C, 5°C/min) とした。クロマトグラムのパターンの解析にはクロマトパック島津 C-R6A を用いた。

種間の類似率の計算は、田村・大沢¹¹⁾による数値群パターン間の類似性を求める方法により行い、計算の結果を100分率として表した¹²⁾。

結果及び考察

予備実験として、各種の葉に含まれる精油成分の含有量と組成の比較を新葉の展開から翌年1月まで行った。それぞれの種の各月の生育段階により精油成分の含有量にはやや差はあるが、組成の変異は少なかった。本実験では11月に採取した葉を用いて種の特異性を検討した。

本実験のガスクロマトグラフィーの条件では、大きなエアショックの後、保持時間(以下 RT とする) 5.4分から28.1分までに23本のピークがみられた。全部の種に共通するピークはみられず、それぞれの種に特異なガスクロマトグラムが得られた(第2図, 第1表)。

M. warburgiana は精油成分の含有量は少なかったが、RT11.3, 13.3及び21.4分で特異的なピークがみられた。*M. australis* では RT5.4分で本種の精油成分の組成の約74%の精油成分が検出された。*M. australasica* では RT8.4, 13.3及び22.0分で顕著なピークがみられた。*M. papuana* では RT5.4分で58%そして22.0分で10%の組成が検出された。

極めて特徴的であったのは *M. inodora* で、精油成分が検出できなかった。葉の発芽から成熟するまで繰り返し調査しても、また、年次を変えて調査しても精油成分は検出できなかった。*M. inodora* の葉は他の *Microcitrus* 属の葉よりやや幅が広く、長い。葉の表面は革質でカンキツ属やキンカン属の葉と似ていて、外観的には油胞の発達もみられる。Swingle・Reece¹⁾は初期にこの種を記載した Bailey の情報を引用し、花には香りが無いとしているが、葉の香りについてはふれていない。このことについては、さらに詳細な検討を要するが、本実験におけるこの発見は *Microcitrus* 属の分類にひとつの指標を与えるものになる可能性がある。

‘Sydney hybrid’は、*M. australis* と *M. australasica* の自然交雑種と見なされているが、両親とは異なる精油成分の組成を示した。RT7.3, 9.4, 10.3及び27.0分のピークは両親にみられなかったが、‘Sydney hybrid’には現れた。また、RT7.6, 11.3, 13.3, 18.5及び 22.6分のピークは両親のいずれかでみられたが本種にはみられなかった。

Table 1 Percentage of the component of essential oils in leaves in *Microcitrus* species.

Peak No.	RT (min)	Species					
		<i>M. inodora</i>	<i>M. warburgiana</i>	<i>M. australis</i>	<i>M. australasica</i>	<i>M. papuana</i>	‘Sydney hybrid’
1	5.4	0.0	0.0	73.9	0.0	57.7	32.0
2	6.8	0.0	0.0	8.1	0.0	0.7	28.2
3	7.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
4	7.6	0.0	0.0	1.1	1.0	1.1	0.0
5	8.4	0.0	0.0	0.0	23.2	2.2	6.1
6	8.8	0.0	2.1	2.0	0.0	0.0	1.7
7	9.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	22.3
8	10.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6
9	11.3	0.0	21.3	1.7	0.0	0.0	0.0
10	13.3	0.0	24.7	0.0	43.9	0.0	0.0
11	16.7	0.0	0.4	0.4	9.3	5.2	0.5
12	17.8	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.1
13	18.5	0.0	1.1	0.0	0.4	1.0	0.0
14	19.4	0.0	1.5	0.1	3.1	2.9	0.1
15	20.7	0.0	0.0	0.6	0.0	2.8	0.3
16	21.4	0.0	48.5	0.3	2.7	2.2	0.4
17	22.0	0.0	0.0	3.5	15.8	10.8	4.2
18	22.6	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0
19	23.8	0.0	0.0	1.4	0.6	8.2	0.1
20	25.0	0.0	0.0	5.1	0.0	4.4	2.3
21	26.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0
22	27.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.8
23	28.1	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0
Total		0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

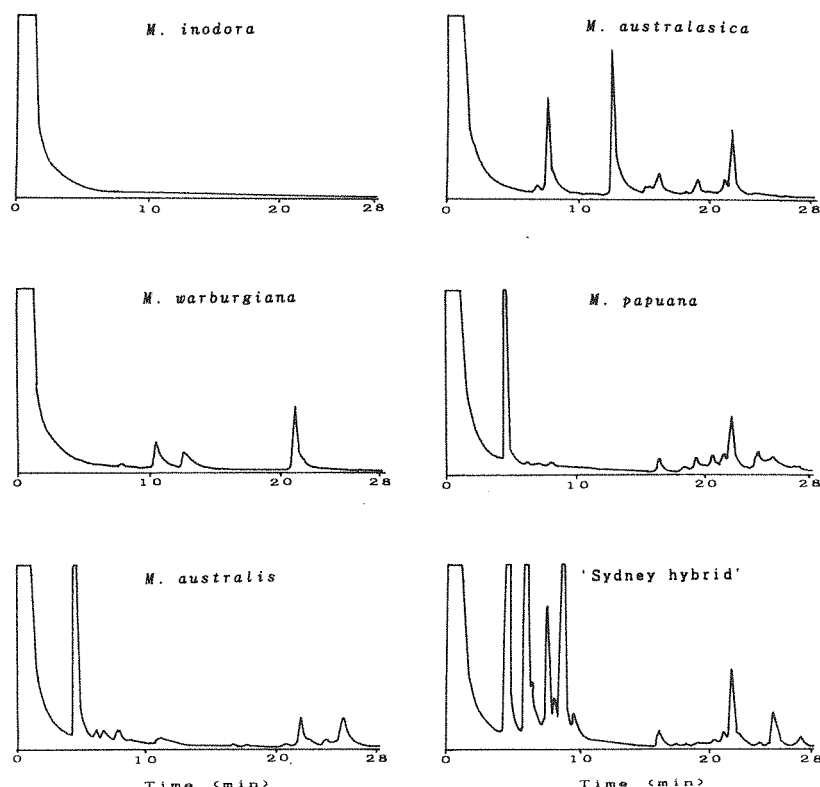


Fig. 2 Gas chromatograms of essential oils in leaves of *Microcitrus* species.

クロマトグラムの特徴は類似率の計算の結果とも一致し、各種が独立であることを示した(第2表)。第1図の系統樹とも一致し、*M. inodora* は他の種とは極めて異っていた。*M. papuana* の分類上の位置付けについてはさらに検討を要するが、*M. australis* と'Sydney hybrid'に比較的近縁であるとの値となった。これら3種ではRT5.4分の大きなピーク、類似率の高さに影響したものと考えられる。しかし、*M. australis* の血を引いている可能性を示唆したことは興味深い。

M. warburgiana は、Swingle・Reece¹⁾の分類によれば *M. australasica* より *M. australia* に近縁のはずであるが、予測とは異なった。*M. warburgiana* の精油成分含量が低かったのに加え、RT13.3分のピークが一致したことによって計算値が影響されたようである。クロマトグラムのパターンでは34.2%という値からみられるほどの一致はない。花や果実の精油成分の分析により多くの情報を得ることが必要である。

Rahmann・Nito¹³⁾は、グルタミン酸オキザロ酢酸アミノ基転移酵素(GOT)アイソザイムを用いて、*Microcitrus* 属の遺伝分析を行った。その中で *M. australis*, *M. australasica*, *M. inodora* 及び'Sydney

Table 2 Similarity index (%) of genus *Microcitrus* revealed by essential oils in leaves.

	1	2	3	4	5	6
1. <i>M. inodora</i>	—					
2. <i>M. warburgiana</i>	0.0	—				
3. <i>M. australis</i>	0.0	1.6	—			
4. <i>M. australasica</i>	0.0	34.2	2.9	—		
5. <i>M. papuana</i>	0.0	5.0	97.0	10.0	—	
6. 'Sydney hybrid'	0.0	1.0	64.6	8.2	64.0	—

hybrid'の GOT アイソザイムパターンを示し、それぞれの種が独立であることを示唆している。本研究とも一致する結果である。

種間の近縁については、形態学的調査や生化学的調査を含めて検討しなければならない。本属のように精油成分の組成が単純な場合、特定のピークにより類似率に影響が現れた。類似率を求める計算式についての検討も必要である。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、予備実験に多大なる労を惜しまなかった竹下淳也氏と納富麻子氏に深謝の意を捧げる。

摘 要

本学に保存している *Microcitrus* 属 6 種を同定するために、ガスクロマトグラフィーにより成熟葉中の精油成分の分析を行った。*M. inodora*, *M. warburgiana*, *M. australis* 及び *M. australasica* はそれぞれ独立した種であることが示された。分類が不明確である *M. papuana* は *M. australis* に近縁であることが示唆された。*M. inodora* の独自性は葉に精油成分を含まないことにより示された。*M. australis* と *M. australasica* の雑種である 'Sydney hybrid' は、種子親の *M. australis* の影響を強く受けているようである。

引 用 文 献

1. Swingle, W. T. and P. C. Reece. 1967. The botany of citrus and its wild relatives. p. 350-358. In: W. Reuter, H. J. Webber and L. D. Batchelor (eds.). 1967. *The citrus industry*, Vol. 1, Univ. Calif. Press, Berkley, Calif. U. S. A.
2. Barrett, H. C. 1977. Intergeneric hybridization of *Citrus* and other genera in citrus cultivars improvement. *Proc. Intl. Soc. Citriculture* 2 : 586-589.
3. Barrett, H. C. 1981. Breeding cold-hardy citrus scion cultivars. *Proc. Intl. Soc. Citriculture* 1 : 61-66.
4. Barrett, H. C. 1985. Hybridization of *Citrus* and related genera. *Fruit Var. J.* 39 : 11-16.
5. Bitters, W. P., Brusca, J. A. and D. A. Cole. 1964. The citrus relatives as citrus rootstocks. *Proc. 1st Intl. Citrus Symp.* 1 : 411-415.
6. Hutchison, D. J. 1985. Rootstock development screening and selection for disease tolerance and horticultural characteristics. *Fruit Var. J.* 39 : 21-25.
7. Jones, D. T. 1990. A background for the utilization of citrus genetic resources in Southeast Asia, I: Classification of the Aurantioideae. p. 31-37. In: B. Aubert, S. Tontyaporn and D. Buangsuwon (eds.). *Proc. 4th Intl. Asia Pacific Conf. on Citrus Rehab.*
8. Wutscher, H. K. 1979. Citrus rootstock. *Hortic. Rev.* 1 : 237-269.
9. Iwamasa, M., N. Nito and J. T. Ling. 1988. Intra- and intergeneric hybridization in the orange subfamily, Aurantioideae. *Proc. 6th Intl. Citrus Cong.* 1 : 123-130.
10. Huxley, A. M., Griffiths and M. Levy (eds.). *The new royal horticultural society dictionary of gardening*. Vol. 3. p. 231-232.
11. 田村真八郎・大沢文江. 1969. 食品間のアミノ酸パターンの類似性について. *栄養と食糧* 22 : 494-496.
12. 片山幸良・仁藤伸昌・町野淳子. 1994. 精油成分分析によるキンカン属の分類. *佐賀大農彙*. 77 : 37-45
13. Rahman, M. M. and N. Nito. 1994. Inheritance and linkage relationships of glutamate oxaloacetate transaminase isozymes in *Microcitrus*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 62 : 749-754.